DOI:10.11931/guihaia.gxzw202306048

山茶属瘤果茶组 10 种植物的花粉和叶表皮微形态研究

颜　超[1]，肖　旭[1]，冉朝辉[1]，李　志[1,2*]

（1. 贵州大学 林学院，贵阳 550025; 2. 贵州大学生物多样性与自然保护研究中心，贵阳 550025）

摘　要：利用光学显微镜和扫描电镜对 10 种瘤果茶组植物进行叶表皮微形态和花粉形态观测，并分别依据花粉特征和叶表皮特征进行聚类分析，以期能为该组植物的系统演化、分类鉴定等提供必要依据，其中 10 种植物的花粉形态为首次报道。结果表明：（1）10 种植物的花粉形态和大小差异不大，为近球形、长球形或扁球形；极面观为三裂近圆形或三裂近三角形；赤道观面为椭圆形，极赤比（P/E）为 0.85~1.16，萌发孔类型为三孔型；外壁纹饰特征差异较显著，为颗粒状、皱沟状或皱波状至颗粒状形态，有较为重要的分类价值。（2）通过对测量指标提取主成分聚类分析，当欧氏距离为 4.5 时，得到 4 个分类群，部分分类结果和宏观形态学分类一致。（3）10 种植物的叶表皮细胞为不规则型和多边形，种间形态差异较大；曾氏瘤果茶和荔波红瘤果茶的上下表皮均有腺体；气孔器仅分布在下表皮，均为环列型；垂周壁样式呈现出浅波形、波形、直曲形和深波形。此外，叶表皮微形态的细胞大小和气孔器特征（大小、密度）在种间有显著差异。该研究表明花粉形态和叶表皮微形态在瘤果茶组中类型多样，可作为区分部分近缘种类群的依据。

关键词：山茶属，瘤果茶组，花粉形态，叶表皮微形态，系统学意义

中图分类号：Q944.42　　　　　　**文献标识码**：A

Pollen morphology and leaf epidermal micromorphology of 10 species（*Camellia,* sect. *Tuberculata*)

YAN Chao[1], XIAO Xu[1], RAN Zhaohui[1], LI Zhi[1,2*]

（1. *College of Forestry*, *Guizhou University*, Guiyang 550025, China; 2. *Research Center for Bio-diversity and Nature Conservation*, *Guizhou University*, Guiyang 550025, China）

Abstract：To provide researh data for the phylogenetic evolution, classification and identification of plants in sect. *Tuberculata* of *Camellia* genus, 10 species of the section, leaf epidermal micromorphology and pollen morphology were observed by light microscope and scanning electron microscopy (SEM) and based on pollen features and leaf epidermal features to clustered separately. The results were as follows: (1) 10 species have no significant difference in morphology and size, the pollen shape is prolate, subspheroidal or oblatesphere; the outline of pollen in polar view is trilete rounded or trilete regular teiangular; the outline in equatorial view is oblong, P/E rangs from 0.85 to 1.16; tricolporate aperature. The exine sculpture is different significantly, the featuee have coarsely warty, foveolate reticulate or rugulate with beadedmun and is important classification value for sect. *Tuberculata*. (2) The cluster analysis of the measurement index showed that when the euclidean distance is 4.5, the 10 species are divided into 4 groups, and some of the classification results are the same as the macroscopic morphological classification. (3)

基金项目：贵州省科学基金一般项目(黔科合基础-ZK[2022]一般 072)；贵州省林业局特色林业研究项目(特林研 2020-06)。

第一作者：颜超(2002-)，硕士研究生，主要从事野生植物资源保护与利用研究，(E-mail) 814465819@qq.com。

***通信作者**：李志，博士，副教授，硕士生导师，研究方向为植物分类及野生植物资源保护，(E-mail) zli7@gzu.edu.cn。

The leaf epidermal cells of 10 species are irregular or straight, with great morphological differences among species. There are gland in the upper and lower epidermis of *C. zengii*, *C. rhytidophylla* and *C. rubimuricata*; cyclic type stomata are only distributed in the lower epidermis; three shape of anticlinal wall pattern shape have sinuolate, sinuous, repand and sinuate. In addition, the cell size and stomatal features (size and density) of leaf epidermis micromorphology were significantly different between species. This study shows that pollen morphology and leaf epidermal micromorphology are diverse in the sect. *Tuberculata*, which could be used as the basis for distinguishing some closely related species in the sect. *Tuberculata.*
Key words: *Camellia*, Sect. *Tuberculata*, pollen morphology, leaf epidermal micromorphology, phylogenetic significance

山茶属（*Camellia* L.）瘤果茶组（sect. *Tuberculata* Chang）因其“子房与果实表面具瘤状突起”这一独特形态特征而有别于其他组植物，是以贵州为分布中心向周边省份扩散分布的类群（张宏达和任善湘，1991；闵天禄等，1993；张宏达和任善湘，1998）。1939 年钱崇澍教授在四川省发现一种子房和果皮具有瘤状突起的特异种，命名为瘤果茶（*Camellia tuberculata* S. S. Chien）；Sealy（1958）将它归入半宿萼茶组（sect. *Pseudocamellia* Sealy Rev.）。1981 年张宏达依据“蒴果果皮有瘤状皱褶”这一独特的形态建立了瘤果茶组，起初仅有 6 种（张宏达，1981），此后十年间又相继报道了 11 种（张宏达和任善湘，1991）。闵天禄（1993）通过对标本的观测，将 17 个种归并为 6 种和 6 变种；1996 年张宏达基于宏观形态研究，重新确认了 15 个独立的种（张宏达和任善湘，1996）。但由于瘤果茶组植物多生长在喀斯特山地，为狭域分布种，野外调查较为困难。前人对该类群的分类处理都是基于馆藏标本的进行宏观性状研究，缺乏多学科的分类学证据，一些分类学基本问题仍被遗留下来（例如种间界限不明、名实存疑和亲缘关系不清等）。因此，补充该类群多学科数据有助于解决这些分类学问题。叶表皮微形态作为植物分类研究的证据之一（张浩和庄雪影，2004；敖成齐等，2022），已广泛应用在山茶属植物的分类学研究中。例如李凤英（2013）对金花茶系（ser. *Chrysanthae* Chang）25 个分类群进行叶表皮研究，结果表明该性状在解决种间分类问题上有一定的分类价值。Lu 等（2008）对瘤果茶组 18 种植物进行叶片解剖学、微形态和傅立叶红外光谱（FTIR）研究分析，并建议恢复 11 个种的种级分类地位。虽然该研究对该组植物做了较为详细研究，但其所采集植物为同质园种植，缺少野外植株的多样性和代表性。因此，有必要继续对野外居群进行叶表皮研究。花粉形态也是分类研究中的重要证据之一（陈相洁等，2022；梁晓丽等，2022）。李广清等（2005）通过对连蕊茶组（sect. *Theopsis* Coh. St.）的 6 种植物进行花粉形态研究，结果表明 6 种连蕊茶组植物的花粉形态种间差异显著，可作为种间界定证据之一。

本研究首次报道了瘤果茶组 10 种植物的花粉形态数据，并对 10 种植物进行叶表皮微形态研究。以补充该组植物分类学研究中的微形态数据，为进一步厘清瘤果茶组植物的种间界定和系统学研究提供参考资料。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究的 10 种植物材料都采自野外自然生长植株，凭证标本现存于贵州大学林学院标本馆（GZAC），采集信息和标本凭证见表 1。

表 1 材料来源

Table 1 Source of material

编号 No.	分类群 Taxon	采集地 Locality	凭证标本 Voucher specimen
1	安龙瘤果茶 *Camellia anlongensis*	贵州望谟县乐康村 Lekang Village, Wangmo County, Guizhou	GZAC, LZ20210413
2	曾氏瘤果茶 *Camellia. zengii*	贵州黎平县丘团村 Qiutuan Village, Liping County, Guizhou	GZAC, LZ20210829
3	厚壳红瘤果茶 *Camellia. rubituberculata*	贵州兴仁市新寨村 Xinzhai Village, Xingren City, Guizhou	GZAC, LZ20210411
4	尖苞瘤果茶 *Camellia. acutiperulata*	广西隆林县金钟山乡 Jinzhongshan Town, Longlin County, Guangxi	GZAC, LZ20221103
5	乐业瘤果茶 *Camellia. leyeensis*	广西乐业县雅长村 Yachang Village, Leye County, Guangxi	GZAC, LZ20210413
6	黎平瘤果茶 *Camellia. lipingensis*	贵州黎平县岑岜村 Cengba Village, Liping County, Guizhou	GZAC, LZ20210830
7	荔波红瘤果茶 *Camellia. rubimuricata*	贵州荔波县莫干寨 Mogan Village, Libo County, Guizhou	GZAC, LZ20211213
8	三江瘤果茶 *Camellia. pyxidiacea*	贵州兴义市三江口镇 Sanjiangkou Town, Xingyi City, Guizhou	GZAC, LZ20211204
9	狭叶瘤果茶 *Camellia. neriifolia*	贵州赤水市元厚镇 Yuanhou Town, Chishui City, Guizhou	GZAC, LZ20220821
10	皱叶瘤果茶 *Camellia. rhytidophylla*	贵州开阳县冯三镇 Fengsan Town, Kaiyang County, Guizhou	GZAC, LZ20220802

1.2 花粉扫描电镜方法

在野外采集中，将新鲜花药置于戊二醛中保存，带至实验室进行电镜扫描。具体步骤如下：将花粉在室温下自然干燥 36 h；检测时，将花粉均匀地撒到粘有导电胶的样品台上，并用离子溅射仪镀金膜（厚 8 nm），移入扫描电子显微镜下扫描。随机选取完整花粉进行观察、拍照。使用 Image J 图像软件测量极轴（P）及赤道轴（E）长度等指标。用 Excel 2019 统计数据，计算花粉极赤比（P/E）。花粉形态相关术语及分级标准参照韦仲新（1992）和王伏雄（1995），根据极赤比将花粉的形状分为 5 级，即超长球形（P/E≥2）、长球形（1.5< P/E<2）、近球形（1<P/E≤1.5）、扁球形（0.5<P/E≤1）、超扁球形（P/E≤0.5）。

1.3 叶表皮制片方法

在干燥标本上取完整叶片（标本凭证见表 1），沿叶脉裁剪成约 1 cm ×1 cm 的正方形，置于 75%的 NaClO 溶液中常温漂白 6~10 h（时间长短因叶质地差异而不同）。待叶肉组织和叶表皮细胞分离后，用镊子在载玻片撕取上、下表皮，制成临时玻片，在光学显微镜（Olympus BX41）进行观察和拍照。形态术语参照王宇飞等（1991）的命名标准描述。

1.4 数据分析

在 Image J 软件和 Excel 2019 中进行花粉和叶表皮微形态数据的测量和统计分析，使用 SPSS 22.0 软件进行聚类分析。对叶表皮的气孔指数（I）和气孔密度（D）计算公式如下：

$$I = S/(S+E) \times 100\%$$

式中：I 为气孔指数；S 为固定面积内气孔数目；E 相同面积内表皮细胞数目。

气孔密度（D）计算公式如下：

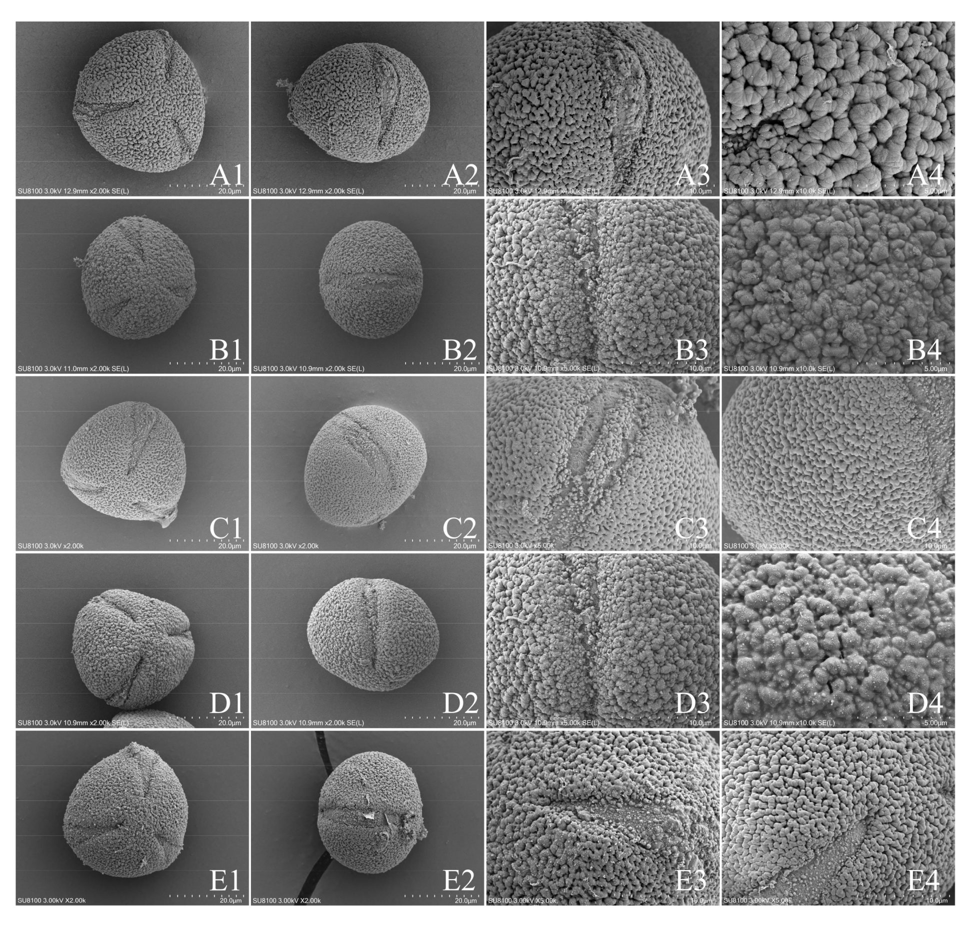
$$D = S/N$$

式中：D 为气孔密度；S 为固定面积内气孔数目；N 为固定面积大小。

2 结果与分析

2.1 花粉粒大小及形状特征

瘤果茶组的 10 种植物均为单花粉粒，萌发孔为三沟型并呈辐射对称状（图 1 和图 2），极轴长（P）在 30.86~ 39.37 μm 间；赤道轴长（E）在 32.10 ~ 37.40 μm 间。极赤比为 0.85 ~ 1.16。根据花粉形态分类标准，除皱叶瘤果茶为扁球形（图 2：J2）和尖苞瘤果茶为长球形（图 2：I2）外，其余 8 个种植物花粉均为近球形（图 1 ：A2-H2 和表 2）；黎平瘤果茶和厚壳红瘤果茶的极观面为三裂正三角形，其余 8 种植物的极观面为三裂近圆形；花粉赤道观面有 2 种（椭圆形与梭形），其中黎平瘤果茶和狭叶瘤果茶为梭形（图 1：E2 和图 2：H2），其余 8 种皆为椭圆形；10 种植物的外壁纹饰特征主要呈现出颗粒状、皱沟状或皱波状至颗粒状等形态，其中安龙瘤果茶、乐业瘤果茶和尖苞瘤果茶的外壁纹饰为皱波状至颗粒状（图 1：A4，D4 和图 2：I4）；曾氏瘤果茶、黎平瘤果茶、狭叶瘤果茶和皱叶瘤果茶 4 个种植物的外壁纹饰为颗粒状（图 1：B4 和图 2：E4，H4，J4），其余厚壳红瘤果茶、荔波红瘤果茶和三江瘤果茶 3 种植物分外壁纹饰为皱沟状纹饰（图 1：C4 和图 2：F4，G4）。但 10 个种的种间外壁纹饰差异显著，网眼大小不一，形态也各不相同，这表明花粉外壁纹饰可作为瘤果茶组植物主要种间分类性状之一，有着重要的分类价值。

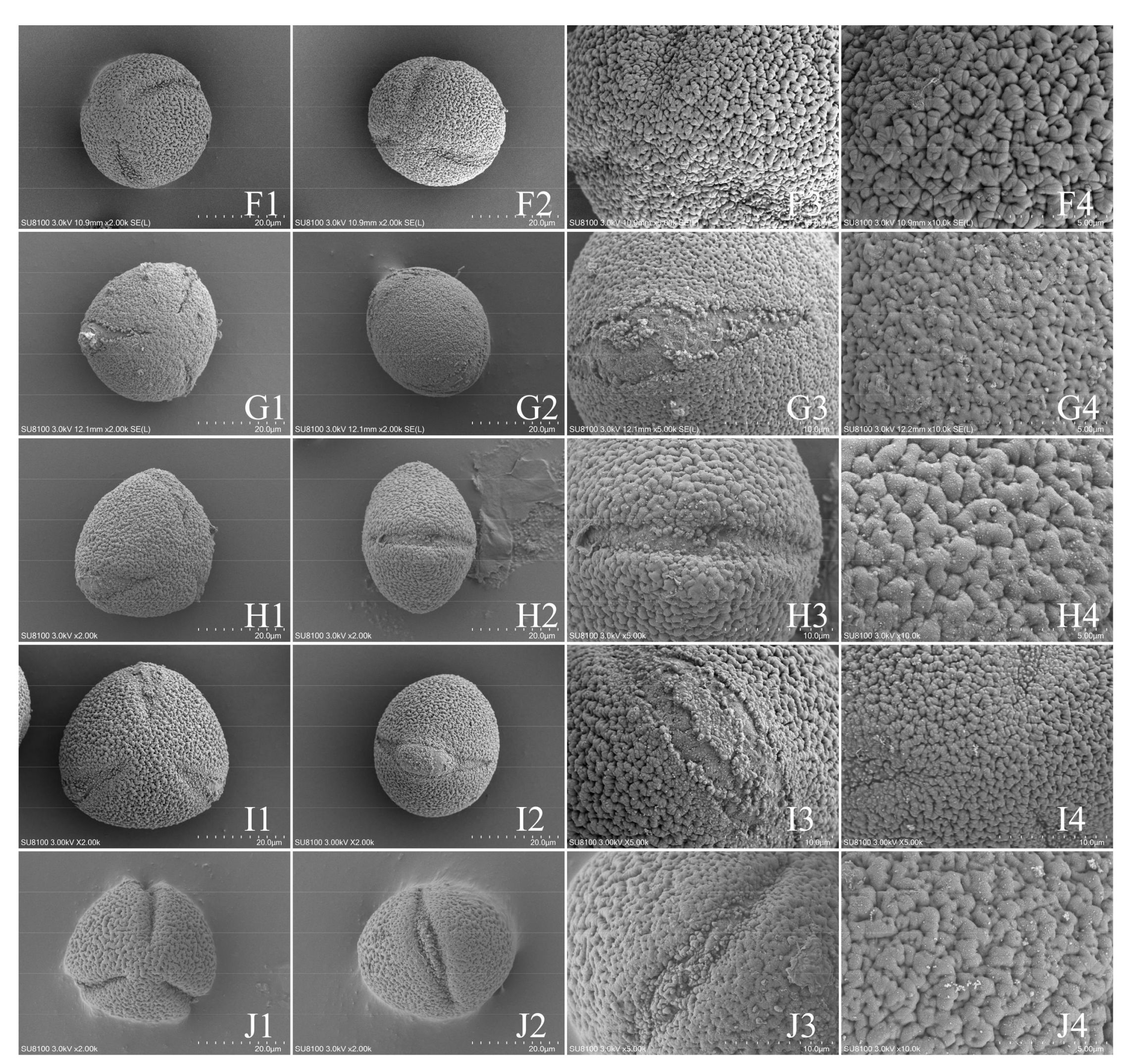


A. 安龙瘤果茶；**B**. 曾氏瘤果茶；**C**. 厚壳红瘤果茶；**D**. 乐业瘤果茶；**E**. 黎平瘤果茶。**1**. 极面观；**2**. 赤道观面；**3**. 萌发沟；**4**. 外壁纹饰。

A. *C. anlongensis*; **B**. *C. zengii*; **C**. *C. rubituberculata*; **D**. *C. acutiperulata*; **E**. *C. leyeensis.* **1**. Outline in polar view; **2**. Outline in equatorial view; **3**. Aperature; **4**. Exine sculpture.

图 1 5 种瘤果茶组植物的花粉形态

Fig.1 Pollen morphology of five species of sect. *Tuberculata*



F. 荔波红瘤果茶；**G**. 三江瘤果茶；**H**. 狭叶瘤果茶；**I**. 尖苞瘤果茶；**J**. 皱叶瘤果茶。**1**. 极面观；**2**. 赤道观面；**3**. 萌发沟；**4**. 外壁纹饰。

F. *C. lipingensis*; **G**. *C. rubimuricata*; **H**. *C. pyxidiacea*; **I**. *C. neriifolia*; **J**. *C. rhytidophylla.* **1**. Outline in polar view; **2**. Outline in equatorial view; **3**. Aperature; **4**. Exine sculpture.

图 2 5 种瘤果茶组植物的花粉形态

Fig.2 Pollen morphology of five species of sect. *Tuberculata*

表 2 10 种瘤果茶组植物的花粉形态特征

Table 2 Pollen features of ten species of sect. *Tuberculata*

分类群 Taxon	极轴长 Polar axis length (P) (μm)			赤道轴长 Equatorial axis length (E) (μm)	极赤比 P/E	萌发沟 Aperature (μm)			花粉形状 Pollen shape	极观面 Outline in polar view	外壁纹饰 Exine sculpture	赤道观面 Outline in equatorial view	萌发孔 Aperature
	Max	Min	平均值 $\bar{x}$			长 Length	宽 Width	长/宽 L/W					
安龙瘤果茶 *C. anlongensis*	36.77	34.47	35.77	37.40	0.96	26.98	6.27	4.30	近球形 Subspheroidal	三裂近圆形 Trilete rounded	皱波状至颗粒状纹饰 Rugulate with beadedmun	椭圆形 Oblong	三孔沟 Tricolporate
曾氏瘤果茶 *C. zengii*	32.33	31.10	31.91	32.65	0.98	27.38	4.89	5.60	近球形 Subspheroidal	三裂近圆形 Trilete rounded	颗粒状纹饰 Coarsely warty	椭圆形 Oblong	三孔沟 Tricolporate
厚壳红瘤果茶 C. *rubituberculata*	33.48	30.89	32.07	35.34	0.91	25.54	7.48	3.41	近球形 Subspheroidal	三裂正三角形 Trilete regular teiangular	皱沟状纹饰 Foveolate reticulate	椭圆形 Oblong	三孔沟 Tricolporate
乐业瘤果茶 *C. leyeensis*	34.65	32.72	33.73	33.54	1.01	24.21	5.46	4.43	近球形 Subspheroidal	三裂近圆形 Trilete rounded	皱波状至颗粒状纹饰 Rugulate with beadedmun	椭圆形 Oblong	三孔沟 Tricolporate
黎平瘤果茶 *C. lipingensis*	32.50	31.27	32.04	35.16	0.91	23.87	5.08	4.70	近球形 Subspheroidal	三裂正三角形 Trilete regular teiangular	颗粒状纹饰 Coarsely warty	梭形 Fusiform	三孔沟 Tricolporate
荔波红瘤果茶 *C. rubimuricata*	32.45	29.08	30.86	32.10	0.96	22.54	3.88	5.81	近球形 Subspheroidal	三裂近圆形 Trilete rounded	皱沟状纹饰 Foveolate reticulate	椭圆形 Oblong	三孔沟 Tricolporate
三江瘤果茶 *C. pyxidiacea*	32.70	30.86	31.83	32.74	0.97	21.83	7.18	3.04	近球形 Subspheroidal	三裂近圆形 Trilete rounded	皱沟状纹饰 Foveolate reticulate	椭圆形 Oblong	三孔沟 Tricolporate
狭叶瘤果茶	34.1	31.67	33.12	35.51	0.93	23.32	3.61	6.46	近球形	三裂近圆形	颗粒状纹饰	梭形	三孔沟

C. neriifolia									Subspheroidal	Trilete rounded	Coarsely warty	Fusiform	Tricolporate
尖苞瘤果茶	39.37	38.52	38.96	33.65	1.16	27.11	7.41	3.66	长球形	三裂正三角形	皱波状至颗粒状纹饰	椭圆形	三孔沟
C. acutiperulata									Prolate	Trilete regular teiangular	Rugulate with beadedmun	Oblong	Tricolporate
皱叶瘤果茶	33.03	30.83	31.91	37.37	0.85	27.82	4.9	5.68	扁球形	三裂正三角形	颗粒状纹饰	椭圆形	三孔沟
C. rhytidophylla									Oblatesphere	Trilete regular teiangular	Coarsely warty	Oblong	Tricolporate

2.2 孢粉学的聚类分析

根据花粉的外壁纹饰、赤道观面、花粉形状、大小等 14 个结构指标对 10 个种植物进行 R 型聚类分析。由图 3 可知，在欧氏距离为 4.5 处时，10 个植物被分为 6 类，例如黎平瘤果茶与狭叶瘤果茶最为接近，这二种植物花粉的外壁纹饰都具有颗粒状和花粉赤道观面为梭形梭形的特点。这二种植物与乐业瘤果茶和曾氏瘤果茶共同组成一分支。厚壳红瘤果茶与尖苞瘤果茶组成另一类。当欧氏距离为 15 时，10 种瘤果茶组植物分为 2 个类群，Ⅰ类由黎平瘤果茶、狭叶瘤果茶、乐业瘤果茶、曾氏瘤果茶、厚壳红瘤果茶、尖苞瘤果茶、荔波红瘤果茶和皱叶瘤果茶 8 个物种组成，这些种拥有更短的赤道轴和萌发沟较长等特点；Ⅱ类由安龙瘤果茶和三江瘤果茶组成组成，两种植物的花粉形态差异较小。

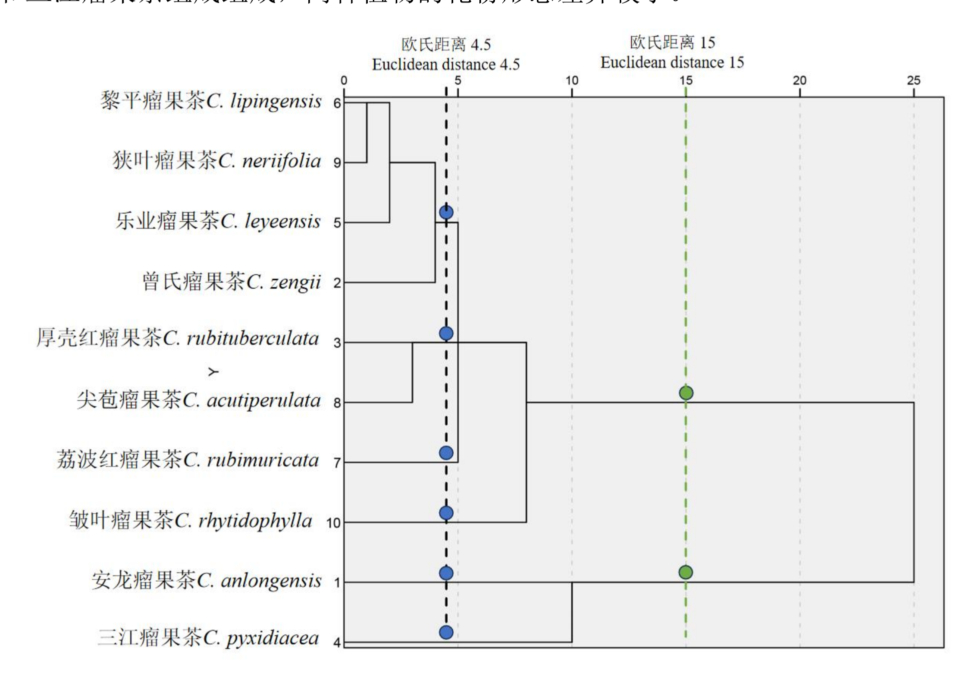


图 3 10 种瘤果茶组植物的孢粉学聚类结果

Fig.3 Results of palynology clustering in ten species of sect. *Tuberculata*

2.3 叶表皮形态特征

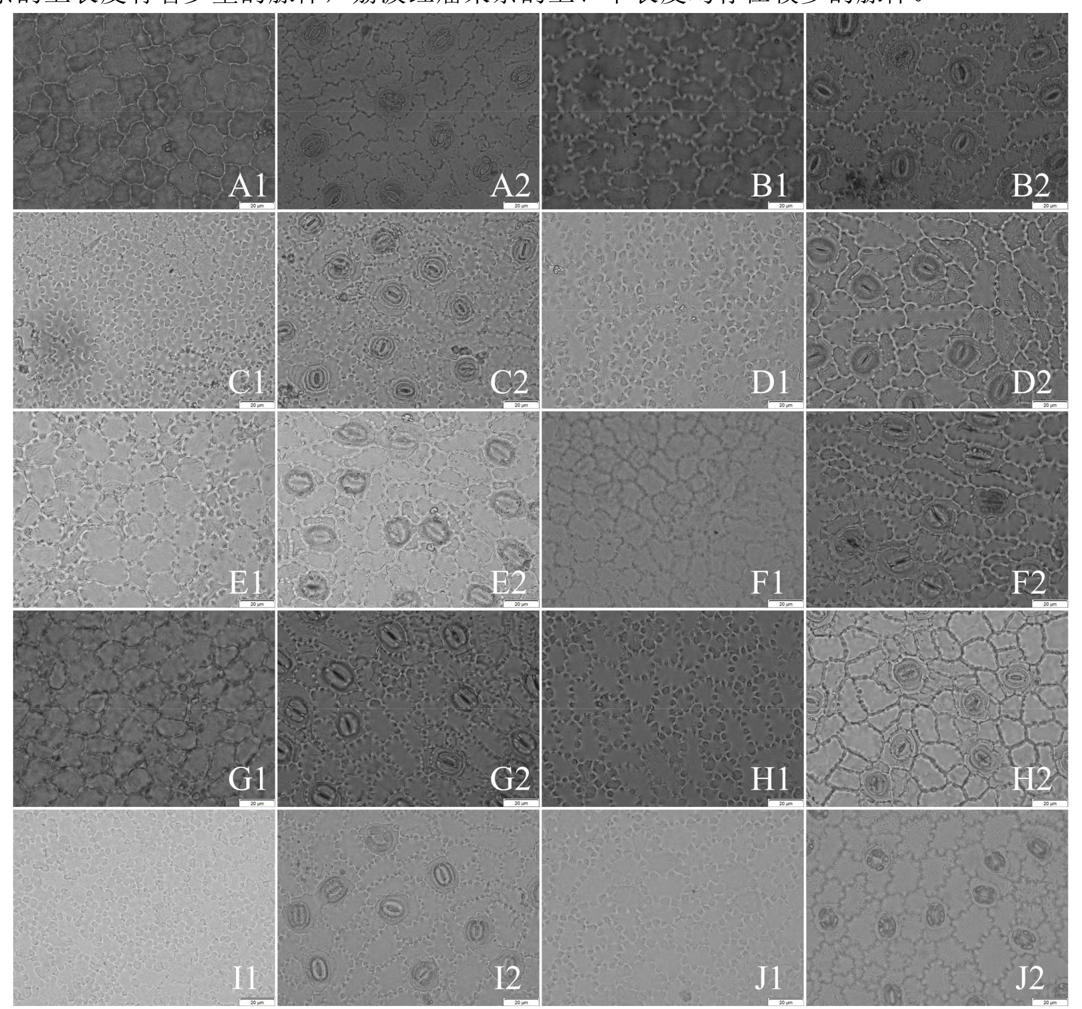
2.3.1 表皮细胞的形态

根据观察，10 种植物的叶表皮细胞形态呈现出多样化，大致可分为 5 类（表 3）：（1）无规则波型：表皮细胞为不规则形，大小不等，垂周壁式样为波状，例如狭叶瘤果茶和皱叶瘤果茶和荔波红瘤果茶的上表皮细胞（图 4：I1 和 J1）；曾氏瘤果茶、厚壳红瘤果茶、荔波红瘤果茶和狭叶瘤果茶的下表皮细胞（图 4：A2、C2、G2 和 I2）。（2）无规则浅波型：表皮细胞为不规则形，大小不等，垂周壁式样为浅状，例如荔波红瘤果茶的上表皮细胞（图 4：G1）以及安龙瘤果茶、尖苞瘤果茶和乐业瘤果茶的下表皮细胞（图 4：A2、D2 和 E2）。（3）不规则深波型：表皮细胞不规则形，大小不等，深波状垂周壁，显著加厚，在厚壳红瘤果茶上表皮和三江瘤果茶上下表皮细胞（图 4：C1、I1 和 I2）与皱叶瘤果茶下表皮（图 4：J2）中发现。（4）无规则直曲形，表皮细胞无规则，但垂周壁样式为直曲形，较为规整，仅在安龙瘤果茶、乐业瘤果茶和黎平瘤果茶的上表皮（图 4：A1、E1 和 F1）中发现。（5）多边形（垂周壁样式包括直曲形、浅波形和深波形各 1 种，依次为黎平瘤果茶上表皮（图 4：F1）、荔波红瘤果茶上表皮（图 4：G1）和三江瘤果茶下表皮（图 4：H2）。

2.3.2 细胞大小及腺体

通过 Image J 软件对叶表皮细胞进行面积测量，每种植物测 30 个细胞，取平均值。在

上表皮细胞中，细胞截面积最小为厚壳红瘤果茶（490.90 μm²），最大为乐业瘤果茶 1036.77 μm²），其中安龙瘤果茶（827.95 μm²）与曾氏瘤果茶（844.11 μm²）最为接近；细胞长宽比（L/W）最大值为 1.38（安龙瘤果茶、曾氏瘤果茶和乐业瘤果茶），最小值为 1.11（黎平瘤果茶）详见表 3。对下表皮细胞进行分析，细胞截面积最小值的是厚壳红瘤果茶（660.43 μm²），最大值的是皱叶瘤果茶（1 396.60 μm²），黎平瘤果茶（900.41 μm²）与狭叶瘤果茶（897.10 μm²）细胞大小最为接近；细胞长宽比（L/W）最大为 1.79（安龙瘤果茶），最小为 1.19（荔波红瘤果茶），其中乐业瘤果茶和狭叶瘤果茶的下表皮细胞长宽比（L/W）都是 1.26，详见表 4。在实验中发现有 3 种植物（曾氏瘤果茶、荔波红瘤果茶和皱叶瘤果茶）的表皮中有不同数量的腺体，其中曾氏瘤果茶的下表皮有着较多的油腺，上表皮也有少量腺体；皱叶瘤果茶的上表皮有着少量的腺体，荔波红瘤果茶的上、下表皮均存在较多的腺体。



A. 安龙瘤果茶；**B**. 曾氏瘤果茶；**C**. 厚壳红瘤果茶；**D**. 尖苞瘤果茶；**E**. 乐业瘤果茶；**F**. 黎平瘤果茶；**G**. 荔波红瘤果茶；**H**.三江瘤果茶；**I**.狭叶瘤果茶；**J**.皱叶瘤果茶。**1**. 上表皮；**2**. 下表皮。（比例尺：20 μm）

A. *C. anlongensis*; **B.** *C. zengii;* **C.** *C. rubituberculata;* **D.** *C. acutiperulata*; **E.** *C. leyeensis*; **F.** *C. lipingensis*; **G.** *C. rubimuricata*; **H.** *C. pyxidiacea*; **I.** *C. neriifolia*; **J.** *C. rhytidophylla*. **1**. The adaxial leaf epidermis, **2**. The abaxial leaf epidermis. (Measuring scale: 20 μm).

图 4 显微镜下山茶属 10 种瘤果茶组植物的叶表皮特征

Fig.4 Microscopic leaf epidermal features of ten species of sect. *Tuberculata*

表 3 瘤果茶组 10 种植物的叶表皮细胞特征

Table 3 Leaf epidermal cell features of ten species of sect. *Tuberculata*

分类群 Taxon	上表皮 Upper epidermis					下表皮 Lower epidermis				
	细胞形状 Cell shape	垂周壁样式 Anticlinal wall pattern	细胞截面积 Cell crossection area (μm^2)	长/宽 L/W	腺体 Gland	细胞形状 Cell shape	垂周壁样式 Anticlinal wall pattern	细胞截面积 Cell crossection area (μm^2)	长/宽 L/W	腺体 Gland
安龙瘤果茶 *C. anlongensis*	无规则形 Irregular	直曲形 Repand	827.95	1.38	无 Absent	无规则形 Irregular	浅波状 Sinuolate	936.55	1.79	无 Absent
曾氏瘤果茶 *C. zengii*	无规则形 Irregular	深波状 Sinuate	844.11	1.38	有 Present	无规则形 Irregular	波状 Sinuous	1 131.99	1.36	有 Present
厚壳红瘤果茶 *C. rubituberculata*	无规则形 Irregular	深波状 Sinuate	490.90	1.17	无 Absent	无规则形 Irregular	波状 Sinuous	660.43	1.27	无 Absent
尖苞瘤果茶 *C. acutiperulata*	无规则形 Irregular	波状 Sinuous	702.31	1.33	无 Absent	无规则形 Irregular	浅波状 Sinuolate	1 020.33	1.48	无 Absent
乐业瘤果茶 *C. leyeensis*	无规则形 Irregular	直曲形 Repand	1 036.77	1.38	无 Absent	无规则形 Irregular	浅波状 Sinuolate	779.73	1.26	无 Absent
黎平瘤果茶 *C. lipingensis*	多边形 Straight	直曲形 Repand	691.11	1.11	无 Absent	无规则形 Irregular	波状 Sinuous	900.41	1.34	无 Absent
荔波红瘤果茶 *C. rubimuricata*	多边形 Straight	浅波状 Sinuolate	799.15	1.20	有 Present	无规则形 Irregular	波状 Sinuous	888.11	1.19	有 Present
三江瘤果茶 *C. pyxidiacea*	无规则形 Irregular	深波状 Sinuate	963.30	1.15	无 Absent	多边形 Straight	深波状 Sinuate	871.27	1.41	无 Absent
狭叶瘤果茶 *C. neriifolia*	无规则形 Irregular	波状 Sinuous	547.48	1.30	无 Absent	无规则形 Irregular	波状 Sinuous	897.10	1.26	无 Absent
皱叶瘤果茶 *C. rhytidophylla*	无规则形 Irregular	波状 Sinuous	974.82	1.13	有 Present	无规则形 Irregular	深波状 Sinuate	1 396.60	1.23	无 Absent

表 4 瘤果茶组 10 种植物的气孔特征

Table 4 Stomata features of ten species of sect. *Tuberculata*

分类群 Taxon	气孔 Stoma				气孔器 Stomatal apparatus		气孔指数 Stomatal indices (%)
	气孔密度（个·mm^{-2}）	长 Length (μm)	宽 Width (μm)	长/宽 L/W	类型 Type	相邻细胞数 Number of adjacent cells	
安龙瘤果茶 *C. anlongensis*	10.00	29.16	26.01	1.12	环列型 Cyclic type	5~7	12.19
曾氏瘤果茶 *C. zengii*	11.00	21.34	17.76	1.20	环列型 Cyclic type	5~7	17.39
厚壳红瘤果茶 *C. rubituberculata*	6.67	29.09	25.85	1.12	环列型 Cyclic type	4~7	13.27
尖苞瘤果茶 *C. acutiperulatae*e	9.67	31.85	24.6	1.29	环列型 Cyclic type	4~7	10.75
乐业瘤果茶 *C. leyeensis*	15.00	42.11	32.43	1.30	环列型 Cyclic type	4~7	19.40
黎平瘤果茶 *C. lipingensis*	9.00	38.69	32.63	1.19	环列型 Cyclic type	5~7	15.10
荔波红瘤果茶 *C. rubimuricata*	14.33	33.86	28.56	1.18	环列型 Cyclic type	5~7	11.61
三江瘤果茶 *C. pyxidiacea*	14.67	31.3	29.27	1.07	环列型 Cyclic type	5~7	10.50
狭叶瘤果茶 *C. neriifolia*	13.22	21.01	18.19	1.16	环列型 Cyclic type	5~7	14.89
皱叶瘤果茶 *C. rhytidophylla*	9.33	20.38	17.12	1.19	环列型 Cyclic type	5~7	14.48

2.4 气孔器

瘤果茶组 10 种植物的气孔器仅分布在下表皮，全部为环列型（图 4），其垂周壁有不规则形、浅波形、波形和深波形等；气孔密度在 6.67 ~ 14.67 个·mm^{-2} 间；气孔指数变化幅度并不显著，在 10.50% ~ 19.40%之间，其中最大是乐业瘤果茶，为 19.40%，最小是三江瘤果茶，为 10.50%（表 4）。副保卫细胞在 4~7 个不等，多数在 5~7 个之间。

2.5 叶表皮的聚类分析

通过对叶表皮的气孔密度、气孔指数、细胞形状、垂周壁样式等 8 个结构指标进行 R 型聚类分析，由图 5 可知，在欧氏距离为 3 时，10 个植物分为 6 个类群。其中乐业瘤果茶与三江瘤果茶为一分支，这 2 种植物在叶表皮细胞的上表皮细胞形态和细胞截面积都较为相似，安龙瘤果茶、荔波红瘤果茶、尖苞瘤果茶和黎平瘤果茶为一分支，表明其亲缘关系较近；其余四个种各成一分支。当欧式距离为 10 时，10 个种分为 3 个类群，其中安龙瘤果茶、荔波红瘤果茶、尖苞瘤果茶、黎平瘤果茶、狭叶瘤果茶、曾氏瘤果茶、乐业瘤果茶、三江瘤果茶这 8 个种因更高的长宽比（L/W）和相近的气孔密度等特点聚为一类；而厚壳红瘤果茶因其有叶表皮细胞面积小且气孔密度低特点单独为一类；皱叶瘤果茶因下表皮细胞面积大和油腺点仅在上表皮特征为一类。

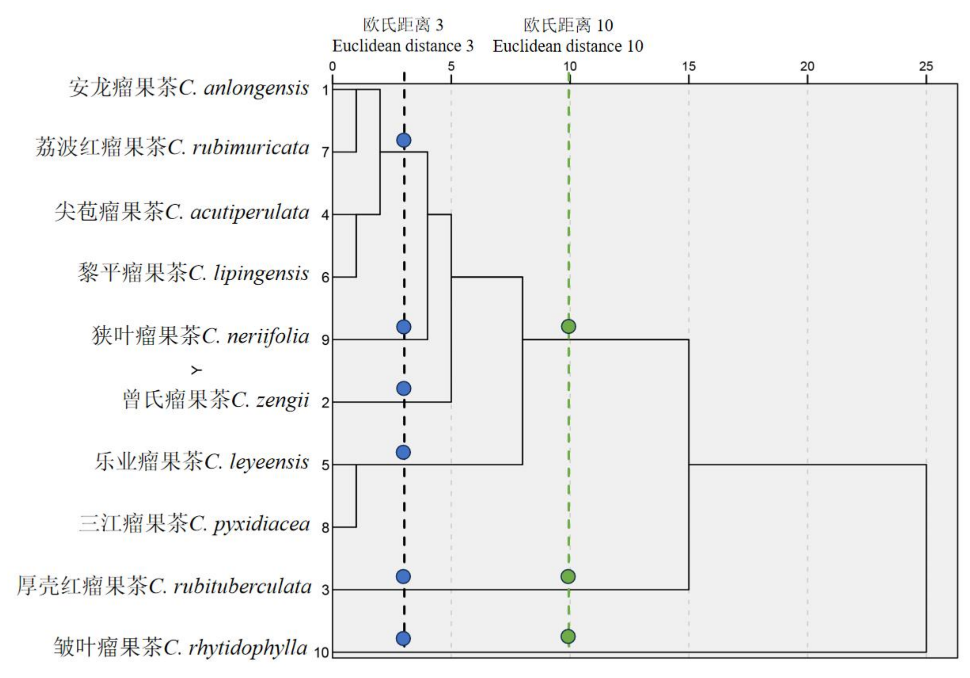


图 5 10 种瘤果茶组植物的叶表皮聚类分析

Fig.5 Cluster analysis of leaf epidermal of ten species of sect. *Tuberculata*

3 讨论与结论

瘤果茶组植物是山茶属在喀斯特石灰岩区域的特化类群，以贵州省为分布中心，扩散至西南及相邻中部省份，呈零星分布状，为限制性狭生态幅物种，种群极小，野外调查较为困难。前人对该类群的分类处理主要是基于馆藏标本对宏观性状的研究，一些种的种间界定仍模糊不清，分类困难。因此增加花粉形态和叶表皮微形态作为分类依据有助于厘清瘤果茶组的种间界限和系统发育关系。

3.1 花粉形态在瘤果茶组中的分类意义

本研究首次报道瘤果茶组 10 种植物的花粉形态，补充了该类群植物花粉形态数据的缺失。结果发现 10 种植物均为单花粉粒，花粉形状都较为相似，以近球形为主，极轴与赤道轴之比在 0.85 ~ 1.16 间，均较小。极观面有三裂近圆形和三裂正三角形两种类型；萌发孔为

角孔或针孔。外壁纹饰有皱波状或颗粒状，但各种植物间的颗粒大小差异较为显著，这例如曾氏瘤果茶、黎平瘤果茶和皱叶瘤果茶的外壁纹饰都为颗粒状，但其穿孔的大小和密度却不一样，这说明该组植物的外壁纹饰的差异具有一定的分类学价值，可作为种间分类依据。这与李广清（2005）对连蕊茶组6种植物进行的花粉形态研究中发现外壁纹饰在种间差异性大，有分类价值是一致的。三江瘤果茶和安龙瘤果茶都分布在贵州省黔西南州，闵天禄依据两种植物的花白色和果实有毛，花柱3～5条的形态特征，将其归并为安龙瘤果茶，在聚类分析中发现在欧式距离为15时，两种植物在同一分支上，支持他们进行合并；黎平瘤果茶和曾氏瘤果茶都采自黎平县五龙山，闵天禄根据2种植物的狭披针形和相似的花性状将其归并为皱果茶（*Camellia rhytidocarpa* Chang & S. Y. Liang）。在花粉形态研究中，黎平瘤果茶的赤道观面为梭形，极面观为三裂正三角形，曾氏瘤果茶的赤道观面为椭圆形，极面观为三裂近圆形，聚类分析距离较远。因此，二者是否做合并处理还需进行宏观形态和分子生物学方面进行研究才能下定论。

3.2 叶表皮微形态在瘤果茶组中的分类意义

瘤果茶组植物叶表皮细胞形状可分为无规则形和多边形两种类型，其中多边形在黎平瘤果茶和荔波红瘤果茶中发现，其余为无规则形，这表明细胞形状在一些种间有一定的分类价值。下表皮气孔均为环列状，这与Lu等(2008)对瘤果茶组植物的叶表皮形态研究结果较为相似，这表明这一性状对瘤果茶组植物的种间分类价值不高。但垂周壁样式有浅波形、波形、直曲形和深波形四种类型，相对于其他性状，有较高的分类价值。但下表皮的形态结构在一些种间有着明显差异，可为一些种的分类提供一定的依据。由本研究结果可知，皱叶瘤果茶的细胞截面积最大（1 396.6 μm^2），上表皮有少量的油腺，垂周壁样式为波状，下表皮气孔密度为9.33个·mm^{-2}，副保卫细胞5~7个；厚壳红瘤果茶的下表皮细胞截面积最小（600.43 μm^2），上下表皮细胞都无油腺，垂周壁样式为深波形，气孔密度为6.67个·mm^{-2}，副保卫细胞4~7个。此外，叶表皮微形态其他性状特征（气孔密度、是否有腺体、气孔器等）在种间都存在明显的差异，可为瘤果茶组大多数物种种间划分提供一定的参考依据，具有一定的分类意义。

通过叶表皮微形态和聚类分析，结果表明乐业瘤果茶与三江瘤果茶的叶表皮微形态上有着较高的相似性，说明二者关系较近，结合二者都仅分布在北盘江流域一带，宏观形态相似（花白色，花柱3~5枚，蒴果瘤状，种子被毛），结果支持闵天禄先生将二者进行合并的分类处理。但仅依靠叶表皮微形态性状进行分类处理过于武断，应开展全面细致的分类研究才能下定论。

综上所述，供试的10种瘤果茶组植物的花粉形态和叶表皮微形态在种间都有一定的差异性，在一定程度表明这些性状对瘤果茶组的分类有一定的参考价值，可以作为种间鉴定的依据之一，能在一定程度上弥补依靠宏观性状难以解决的分类问题。然而，在野外调查中，我们发现瘤果茶组植物的种间分类问题较为复杂，种间杂交现象频繁发生。因此，应以居群为单位进行野外调查，并且采用多学科方法进行研究以解决该类群存在的分类学问题。

参考文献：

敖成齐，陈功锡，张宏达，2002．山茶属的叶表皮形态及其分类学意义[J]. 云南植物研究，24(1)：68-74. [AO CQ, CHEN GX, ZHANG HD, 2002. Leaf epidermis morphology of *Camellia* and its taxonomic significance[J]. Acta Bot Yunnan, 24(1): 68-74.]

陈相洁，毛礼米，潘昱安，等，2022．部分十字花科植物花粉形态特征比较[J]. 植物资源与环境学报，31(1)：13-20. [CHEN XJ, MAO LM, PAN YA, et al., 2022. Comparison on pollen morphological characteristics of some species of Brassicaceae[J]. J Plant Resour Environ, 31(1): 13-20.]

梁晓丽，舒慧娟，王婷，等，2022．凤仙花近缘种间核型分析与叶表皮微形态研究[J]. 广西植物，42(1)∶152-160. [LIANG XL, SHU HJ, WANG T, et al., 2022. Research on karyotype analysis and leaf epidermal micromorphology of related species of *Impatiens*[J]. Guihaia, 42(1): 152-160.]
李凤英，唐绍清，梁士楚，2013．山茶属金花茶组金花茶系植物叶表皮形态学研究[J]. 广西植物，33(3)：376-382. [LI FY, TANG SQ, LIANG SC, 2013. Leaf epidermal morphology of ser. *Chrysantha* (*Camellia*, sect. *Chrysantha*) [J]. Guihaia, 33(3): 376-382.]
李广清，孙立，刘燕，2005．山茶属连蕊茶组 6 种植物花粉形态特征研究[J]. 热带亚热带植物学报，13(1)：40-44. [LI GQ, SUN L, LIU Y, 2005. Pollen features of 6 species in Sect. *Theopsis* of Genus *Camellia*[J]. J Trop Subtrop Bot, 13(1): 40-44.]
闵天禄，钟业聪，1993．山茶属瘤果茶组植物的订正[J]. 云南植物研究，15(2)：123-130. [MING TL, ZHONG YC, 1993. Arevision of genus *Camellia* sect. *Tuberculata*[J]. Acta Bot Yunnan, 15(2): 123-130.]
王伏雄，钱南芬，张玉龙，等，1995．中国植物花粉形态[M]. 北京：科学出版社：1-35. [WANG FX, QIAN NF, ZHANG YL, et al., 1995. Pollen flora of China[M]. Beijing: Science Press: 1-35.]
王宇飞，陶君容，1991．植物角质层分析术语新体系[J]. 植物学通报，8(4)：6-13. [WANG YF, TAO JR, 1991. An introduction to a new system of terminology for plant cuticular analysis[J]. Chin Bull Bot, 8(4): 6-13.]
韦仲新，1992．山茶属的花粉形态及其分类学意义[J]. 云南植物研究，14(3)：275-282. [WEI ZX, 1992. Pollen morphology of *Camellia* (Theaceae) and its taxonomic significance[J]. Acta Bot Yunnan, 14(3): 275-282.]
张宏达，1981．山茶属植物的系统研究[M]. 广州：中山大学学报编辑部：1-50. [ZHANG HD, 1981. A systematic study on *Camellia*[M]. Guangzhou: Editorial Department of Journal of Sun Yatsen University: 1-50.]
张宏达，任善湘，1991．山茶属瘤果茶组植物分类(英文)[J]. 中山大学学报(自然科学版)，30(4)：86-91. [ZHANG HD, REN SX, 1991. Classification on the section *tuberculata* of *camellia*[J]. Acta Sci Nat Univ Sunyats, 30(4): 86-91.]
张宏达，任善湘，1996．山茶科系统发育诠析VI. 瘤果茶组的订正[J]. 中山大学学报论丛，2：59-64. [ZHANG HD, REN SX, 1996. Diagnosis on the systematic development of *Camellia* VI. Revised on the Sect. *Tuberculata* of *Camellia*[J]. Suppl J Sun Yatsen Univ, 2: 59-64.]
张宏达，任善湘，1998．中国植物志：第 49 卷（第 3 分册）[M]. 北京：科学出版社：1-251. [ZHANG HD, REN SX, 1998. Flora Reipublicae Popularis Sinicae: Volume 49 (Part 3) [M]. Beijing: Science Press: 1-251.]
张浩，庄雪影，2004．山茶科部分属种叶表皮形态学研究[J]. 华南农业大学学报，25(3)：87-93. [ZHANG H, ZHUANG X Y, 2004. Study on leaf epidermis of some plants of Theaceae[J]. J S Chin Agric Univ, 25(3): 87-93.]
LU HF, JIANG B, SHEN ZG, et al., 2008. Comparative leaf anatomy, FTIR discrimination and biogeographical analysis of *camellia* section *tuberculata* (Theaceae) with a discussion of its taxonomic treatments[J]. Plant Syst Evol, 274(3-4): 223-235.
SEALY JR, 1958. A revision of the genus *Camellia*[J]. Roy Hortic Soc, 8: 239.